

Optimization of the Method for Determining Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soils using QuEChERS Sample Preparation

O.V. Berezovskyi*, S.V. Midyk, V.I. Korniyenko, O.P. Samkova, V.V. Solomon, A.B. Altanova

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, 15 Heroiv Oborony St., Kyiv, 03041, Ukraine;
*e-mail: ol11111bz@gmail.com

Received: January 01, 2025; Accepted: August 01, 2025

DOI: 10.17721/moca.2025.173-180

The method for determining polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils using QuEChERS sample preparation and high-performance liquid chromatography (HPLC) has been optimized and improved. Chromatographic separation conditions for 16 PAHs were refined using a 3.5 μ m LC Column PAH (250 $\times$ 4.6 mm). Detection parameters for both fluorescence (HPLC-FLD) and diode-array detectors (HPLC-DAD) were optimized to minimize analysis time and cost while ensuring reliable quantification of naphthalene, acenaphthylene, acenaphthene, fluorene, phenanthrene, anthracene, fluoranthene, pyrene, benz(a)anthracene, chrysene, benz(b)fluoranthene, benz(k)fluoranthene, benz(a)pyrene, dibenz(a,h)anthracene, benzo(g,h,i)perylene, and indeno(1,2,3-cd)pyrene. Method performance was evaluated in terms of selectivity, linearity, limits of detection (LOD) and quantification (LOQ), and precision. Extraction efficiencies (R, %) were determined for several representative soil types commonly found in Ukraine. Average recoveries for individual PAHs were high, ranging from 65.90% to 109.05%. To further improve measurement accuracy, chromatogram interpretation, and peak deconvolution, particularly for highly contaminated samples, the Python package hplc-py was employed. Its open-source graphical interface allows the integration of additional functions, facilitating the development of user-friendly tools for chromatogram processing and ongoing method refinement.

Keywords: polycyclic aromatic hydrocarbons, soil, QuEChERS, HPLC-FLD, HPLC-DAD

Оптимізація методу визначення поліциклічних ароматичних вуглеводнів у ґрунтах за використання пробопідготовки QuEChERS

О.В. Березовський*, С.В. Мідик, В.І. Корнієнко, О.П. Самкова, В.В. Соломон, А.Б. Альтанова

Національний університет біоресурсів і природокористування України, вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна; *e-mail: ol11111bz@gmail.com

Надійшла: 01 січня 2025 р.; Прийнята: 01 серпня 2025 р

DOI: 10.17721/moca.2025.173-180

Оптимізовано та вдосконалено методику визначення поліциклічних ароматичних вуглеводнів (ПАВ) у ґрунтах із використанням пробопідготовки QuEChERS та вискоєфективної рідинної хроматографії (HPLC). Уточнено умови хроматографічного розділення 16 ПАВ на колонці LC PAH 3,5 μ m (250 $\times$ 4,6 мм). Підібрано параметри детектування з використанням флуоресцентного (HPLC-FLD) та діодно-матричного (HPLC-DAD) детекторів для скорочення часу та вартості аналізу при збереженні точності кількісного визначення нафталену, аценафтилену, аценафтену, флуорену, фенантрени, антрацену, флуорантену, пірену, бенз(а)антрацену, хризену, бенз(б)флуорантену, бенз(к)флуорантену, бенз(а)пірену, дібенз(а,в)антрацену, бензо(г,х,і)перилену та індено(1,2,3-сд)пірену. Придатність методики оцінено за критеріями селективності, лінійності, меж виявлення (LOD), меж кількісного визначення (LOQ) та прецизійності. Ступені вилучення (R, %) для різних типів ґрунтів, поширених в Україні, були високими й становили 65,90–109,05%. Для підвищення точності вимірювань, інтерпретації хроматограм та деконволюції піків у найбільш забруднених зразках застосовано пакет hplc-py для Python. Відкритий графічний інтерфейс пакета дає змогу інтегрувати нові функції та розробляти зручні інструменти для подальшої обробки хроматограм.

Ключові слова: поліциклічні ароматичні вуглеводні, ґрунт, QuEChERS, HPLC-FLD, HPLC-DAD

Вступ

Поліциклічні ароматичні вуглеводні (ПАВ) – великий клас дуже різноманітних органічних сполук, для яких характерна наявність у хімічній структурі двох і більше конденсованих бензинових кілець, що утворюють різні конфігурації [1]. Вони широко поширені забруднюючі речовини навколишнього середовища, які, в основному, є продуктами неповного згоряння нафти, вугілля, деревини та біомаси. Часто ПАВ потрапляють з розливою нафтою у воду чи ґрунт і акумулюються в живих організмах екосистем та організмів людини [2]. У районах, які віддалені від міської або промислової діяльності, концентрації ПАВ у середовищі відображають фонове забруднення. У місцевості з промисловими зонами або вздовж автомагістралей забрудненість рослинності може бути в десятки разів вищою, ніж в сільській місцевості. Обробка харчових продуктів (наприклад, сушіння та копчення) і приготування їжі при високих температурах (гриль, запікання, смаження) – також ті джерела, що генерують ПАВ [3]. Іншим способом потрапляння їх в організм людини є тютюновий дим. Потрапляючи в легені вони підвищують ризик виникнення раку легень [4]. Підтверджено їх токсичний та мутагенний вплив на живі організми за результатами багатьох досліджень [5, 6, 7]. Було виявлено негативний вплив вмісту окремих ПАВ у ґрунті на ріст рослин [8].

Найбільш вивчені ПАВ – це незаміщені багатокільцеві структури, які не здатні реагувати з молекулами ДНК. Їх канцерогенна дія проявляється після певних хімічних модифікацій, що відбувається під час проходження шляхів детоксикації. У науковій літературі детально описано три шляхи хімічних модифікацій, що призводять до трансформації ПАВ у токсичні сполуки: діол-епоксидний шлях, катіон-радикальний шлях і о-хіноновий шлях. Окремі ПАВ утворюються під час спалювання у формах насичених киснем, зазвичай у формі хінонів. Хінони також утворюються, коли ПАВ піддаються впливу сонячного світла, наприклад, в місцях розливу нафти. Ці метаболічні продукти пошкоджують ДНК за допомогою різних механізмів: епоксиди діолів утворюють об'ємні аддукти з ДНК, катіони радикалів утворюють депуринуючі аддукти, а хінони здатні призводити до окислювально-генерованого пошкодження ДНК активними формами кисню [9].

Канцерогенність ПАВ пов'язана зі складністю молекули (тобто збільшення кількості бензольних кілець). Хоча багато хімічних речовин відносяться до ПАВ, Агентство з охорони навколишнього середовища США (EPA) визначило лише 28 з них небезпечними для здоров'я. Серед яких 16 вважаються пріоритетними забруднюючими речовинами з точки зору їх токсичності. Цей список став основою для розробки аналітичних методів із визначення ПАВ [10].

Нині розроблено значну кількість методів для екстракції ПАВ з ґрунту. Також використовуються різні методи для їхнього хроматографічного розділення, серед яких газова і рідинна хроматографія з різними типами детектування. Серед них: рідинна хроматографія (HPLC-FLD, HPLC-UV, HPLC-DAD, HPLC-MS/MS), газова хроматографія (GC-FID, GC-MS, GC-MS/MS). Але для визначення ПАВ найчастіше використовують методи HPLC-FLD та GC-MS [11]. HPLC-FLD дає можливість визначати вміст окремих компонентів нижче 1 мкг/кг та вважається більш чутливою порівняно з методом вискоефективної рідинної хроматографії з діодно-матричним детектуванням (HPLC-DAD). З 16-ти компонентів ПАВ, рекомендованих для визначення EPA, чутливість флуоресцентного детектора до ацетанафтилену є низькою, тому цей компонент краще визначати методами HPLC-UV чи HPLC-DAD [12]. Метод 610 EPA США встановлює вимоги до аналізу пріоритетних 16 ПАВ. Аналіз може проводитися як для проб води, так і для твердих зразків, таких як ґрунт або відкладення і забезпечує основу для надійного визначення ПАВ у зразках навколишнього середовища. Він рекомендований для визначення ПАВ як для рідинної, так і газової хроматографії [13]. Хоча цей метод має низку недоліків, таких як використання великої кількості розчинників для пробопідготовки (окремі з них токсичні), тривалість пробопідготовки, рекомендований хроматографічний метод в рамках EPA 610 має труднощі з розділенням окремих ПАВ.

Для ефективного виділення поліциклічних ароматичних вуглеводнів з досліджуваного зразка необхідно отримати екстракт, придатний для аналізу відповідними методами хроматографії, очистити від речовин у зразку, які ускладнюють виявлення та вимірювання концентрації досліджуваних компонентів (матричний ефект). В останні десятиліття часто використовувались методи екстракції ПАВ із зразків за допомогою апарата Сокслета та методу прискореної екстракції розчинником (ASE) з використанням таких розчинників, як дихлорметан, гексан, толуол, ацетон, метанол або ацетонітрил, а також їх сумішей, через високу розчинність ПАВ у цих розчинниках [14,15]. Метод Сокслета – давно відомий і досить ефективний спосіб екстракції, але він достатньо тривалий і потребує використання великих об'ємів розчинника [16]. Метод ASE – повністю автоматизований швидкий спосіб екстракції, який можна використовувати для рутинного аналізу. Незважаючи на це, потреба в спеціалізованому та високоякісному обладнанні іноді може нівелювати ці його практичні переваги [17]. Стандартний європейський метод визначення мультизалишків пестицидів EN 15662 (відомий як QuEChERS) був розроблений, щоб забезпечити більш дешевий і швидкий метод аналізу

залишків пестицидів у фруктах та овочах [18], для визначення мікотоксинів у зерні [19], а також придатний для екстракції ПАВ з ґрунту та рослин із невеликим вмістом ліпідів. Цей метод у різних модифікаціях, з використанням різних розчинників, застосовувався в окремих дослідженнях для екстракції ПАВ із зразків харчових продуктів та ґрунту [20, 21, 22]. У кожного з цих методів є свої переваги та недоліки, оскільки досліджувані нами 16 сполук ПАВ хоч і відносяться до одного класу, вони досить різні за молекулярною масою та фізичними властивостями, тому створюють певні обмеження для використання окремих методів. Порівняно з іншими методами, метод QuEChERS дешевший і ефективніший, його застосування значно скорочує тривалість пробопідготовки. Особливою перевагою цього методу є певна універсальність, яка дає можливість визначати у різних матрицях пестициди, поліароматичні вуглеводні, поліхлоровані біфеніли, антибіотики, мікотоксини тощо [23].

Метою даної роботи було оптимізувати методику для визначення концентрації пріоритетних ПАВ (згідно EPA) у ґрунті за допомогою пробопідготовки QuEChERS, використовуючи для аналізу методи рідинної хроматографії (HPLC-FLD, HPLC-DAD), оцінити придатність методики для різних типів ґрунтів, а також вдосконалити обробку сигналів отриманих хроматограм.

Матеріали та методи досліджень

Реактиви та обладнання. У роботі використовували аналітичний стандарт: Polynucleararomatic hydrocarbons 16 solution analytical standard in acetonitrile >99.0% (each single component) виробництва Merck (Німеччина). Для пробо підготовки QuEChERS використовували: сульфат магнію безводний Sigma-Aldrich (США); натрію хлорид, виробництва Merck (Німеччина); ацетонітрил HPLC якості Sigma-Aldrich (Франція) та сорбенти для очищення ацетонітрильного екстракту Chromabond QuEChERS Mix VI Clean-up-Mix (900 mg $MgSO_4$, 150 mg Diamino (PSA), 150 mg C_{18} ec) (MACHEREY-NAGEL, Німеччина). При приготуванні рухомої фази для HPLC використовували деіонізовану воду, яку отримували шляхом очищення на приладі Direct-Q 8UV-R (Millipore, Франція). Для визначення кількості ПАВ у зразках використовували рідинний хроматограф DIONEX Ulti Mate 3000 з флуоресцентним детектором та інший хроматограф (DIONEX Ulti Mate 3000) з діодно-матричним детектором як додатковий прилад для перевірки методу. Хроматографічне розділення ПАВ проводили з використанням хроматографічної колонки Kinetex 3.5 μm LC Column PAH 250 $\times$ 4.6 mm виробництва Phenomenex (США).

Пробопідготовка зразків ґрунту методом QuEChERS. 10 грам подрібненого зразка ґрунту,

попередньо висушеного при 30°C, поміщали у центрифужну пробірку місткістю 50 мл. Додавали 10 мл води та перемішували на вортексі протягом 1 хв. Після цього у пробірку додавали 10 мл ацетонітрилу, перемішували на вортексі протягом 1 хвилини і додавали 4 г безводного сульфату магнію та 1 г хлориду натрію. Вміст пробірки інтенсивно струшували протягом 1 хв. Отриману суміш центрифугували протягом 10 хв при 8000 об/хв. Після цього переносили 5 мл екстракту у центрифужну пробірку місткістю 12 мл, що містила 1.2 г сорбенту QuEChERS Mix VI Clean-up-Mix та інтенсивно струшували протягом 1 хв. Отриману суміш центрифугували впродовж 2 хв при 8000 об/хв. Отриманий супернатант пропускали крізь шприцевий фільтр з діаметром пор 0.45 мкм, після чого 1 мл ацетонітрильного екстракту переносили у віали та аналізували методами вискоефективної рідинної хроматографії (HPLC-FLD та HPLC-DAD).

Хроматографічні умови. Рухома фаза була дегазована і відфільтрована перед аналізом, вона складалася з деіонізованої води (A) та ацетонітрилу (B). Швидкість потоку елюенту становила 1.2 мл/хв. Градієнт для рухомих фаз: 0.0 хв– 30% B; 17.5 хв – 100% B; 25.0 хв – 100% B; 25.1 хв – 30% B; 30.0 хв – 30% B.

Для HPLC-FLD хвилі збудження (Ex) і детекції (Em) були такими: 0.0 хв: Ex – 275 нм, Em – 300 нм (для нафталену, аценафтену, флуорену, антрацену); 11.0 хв: Ex – 260 нм, Em – 420 нм (для антрацену); 11.6 хв: Ex – 270 нм, Em – 440 нм (для флуорантену, пірену); 13.8 хв: Ex – 260 нм, Em – 420 нм (для бенз(а)антрацену, хризену); 15.6 хв: Ex – 290 нм, Em – 430 нм (для бензо(б)флуорантену, бензо(а)флуорантену, бензо(а)пірену, дибензо(а, h)антрацену, бензо(ghi)перилену); 19.0 хв: Ex – 250 нм, Em – 500 нм (для індено(1,2,3-cd)пірену).

Для визначення ПАВ за допомогою HPLC-DAD (діодно-матричний детектор) використовували детектування в довжину хвилі поглинання 254 нм.

Методи оброблення результатів дослідження. Масові частки окремих ПАВ розраховували за методом абсолютного градування (зовнішнього стандарту) з використанням програмного пакету Chromeleon і виражали у мкг. Додатково для візуалізації даних та ідентифікації окремих хроматографічних піків використовували пакет мови програмування Python – Jupyter [24].

Результати досліджень та їх обговорення

Пробопідготовка та оптимізація хроматографічних умов. Відбирання проб проводили відповідно до ISO 10381-5, висушували згідно з ISO 11464. Пробопідготовку здійснювали без етапів, які вимагають випарювання розчинників. Це дозволяє уникнути випарювання найбільш летких і низькомолекулярних ПАВ (нафтален, аценафтилен, аценафтен), зменшити витрати

часу та розчинників на екстрагування порівняно зі стандартними методами DIN EN 17503:2022 і ДСТУ ISO 13877:2005 (діючий в Україні), створює переваги для використання саме цього методу. Отриманий екстракт в ацетонітрилі використовували для хроматографування. Тому в цьому дослідженні використовували як екстракційний розчинник і одну з рухомих фаз лише ацетонітрил. У подібних дослідженнях часто екстрагування методом QuEChERS здійснюють за допомогою інших розчинників чи їхніх сумішей з окремими модифікаціями основного методу [20–23], що збільшує їх витрати і вимагає використання додаткових реагентів для екстракції ПАВ.

Рекомендовані параметри методів EPA 610 і DIN EN 17503:2022 щодо умов хроматографічного розділення і детекції ПАВ за допомогою флуоресцентного детектора в даному методі були змінені (діапазон елюювання ацетонітрилом від 30% до 100%, замість від 40–50% до 100%), хоча в нашому випадку використовувались усі рухомі фази (ацетонітрил і вода). Застосовувались інші параметри ізохронного та лінійного змивання, що дало можливість скоротити час розділення всіх 16 ПАВ до 30 хв порівняно зі стандартними методиками (45–60 хв) та оптимізувати цей процес для швидкого і ефективного розділення сполук з наявним обладнанням.

У результаті оптимізації хроматографічних умов для розділення ПАВ за допомогою хроматографічної колонки Kinetex 3.5 μ m LC Column PAH 250×4.6 mm були отримані хроматограми з можливістю детектування 15-ти компонентів (окрім ацетанафилену) (рис. S1) з використанням флуоресцентного детектора та додатково з використанням детектора HPLC-DAD (рис. S2).

Метод HPLC-DAD застосовували як додатковий метод для детекції ПАВ, хоча його чутливість менша. Цим методом зручніше аналізувати зразки з більш високими концентраціями ПАВ (вищими за 100 мкг/кг) і в даному випадку проводити вимірювання в межах концентрацій 100–3000 мкг/кг. Також він дає можливість вимірювати концентрацію ацетанафилену і виявляти всі 16 досліджуваних ПАВ. Чутливість флуоресцентного детектора до ацетанафталену є дуже низькою але його можна визначати за допомогою HPLC-DAD [12]. Хроматограма, яка отримана за допомогою HPLC-DAD з довжиною хвилі 254 нм і з максимумами поглинання на різних довжинах хвиль поглинання для окремих компонентів зображена на рис. S2. Підбір довжин хвиль поглинання з використанням HPLC-DAD дає можливість розширити можливості цього методу для визначення окремих ПАВ, оскільки дає можливість підібрати довжини хвиль, які забезпечують вищу чутливість методу для вимірювання конкретних сполук. Тому для цього методу хроматографічного

розділення використовували два способи детектування.

Оптимізацію хроматографічних умов потрібно виконувати не тільки на основі аналізу аналітичного стандартного розчину, але й на основі різних зразків, де виявляється більша кількість піків, вони інколи заважають визначенню окремих ПАВ [25]. Приклад хроматограми для зразка ґрунту і хроматограма після додавання 16-ти компонентів ПАВ (в концентрації 60 мкг/кг кожного компоненту) зображений на рис S3.

Оцінка придатності методу. Проводили валідацію методу за критеріями згідно стандартних методів EPA 8100, 8270 та 8310: селективність, лінійність, межа виявлення (LOD), межа кількісного визначення (LOQ), правильність (повернення) та прецизійність. Хоча окремі значення цих критеріїв дещо відрізняються для окремих методів [26–28].

Селективність. Щодо селективності методу важливо переконатись у тому, що визначенню вмісту ПАВ не заважають інші компоненти проби. Для підтвердження селективності методики аналізували зразки ґрунту, що не містять ПАВ (холості проби) та зразки, що містять 16 ПАВ у наступних концентраціях: 5 різних концентрацій (5–80 мкг/кг). Порівнюючи отримані хроматограми нами було встановлено, що визначенню вмісту ПАВ у переважній більшості зразків не заважають інші компоненти проби. Але окремі зразки ґрунтів містять невідомі побічні компоненти, які частково можуть перекриватися піками, що представляють інтерес. Оскільки ґрунт є досить складною матрицею, такі компоненти можуть часто виявлятися на хроматограмах. Неповне розділення піків, велика їх асиметрія, шум, сильний дрейф базової лінії ускладнює правильну інтерпретацію піків. Тому для більш точного визначення площ піків, яким заважають компоненти матриці, ми використовували програмний пакет Python – hplc-py. Він дозволяє проводити деконволюцію піків, обчислювати їх площі та здійснювати інші операції з обробкою хроматограм (рис. 1). Реалізація графічного інтерфейсу в пакеті є відкритою, що дозволяє додавати нові функції та в подальшому удосконалювати програми для обробки хроматограм [24].

Лінійність, межа виявлення та кількісного визначення. Для побудови градуовальної залежності було використано 7 різних концентрацій (2–80 мкг/кг) аналітичного стандартного розчину суміші 16-ти компонентів ПАВ. Для кожної концентрації було отримано по 2 площі хроматографічних піків. Отримані результати валідації щодо лінійності вимірювання знаходяться в межах, зазначених в таблиці S1. Межу виявлення (LOD) та межу кількісного визначення (LOQ) розраховували за формулами (1) і (2) відповідно:

$$LOD = 3.3\sigma / S \quad (1)$$

$$LOQ = 10\sigma / S \quad (2)$$

де σ – стандартне відхилення сигналу; S – нахил градувальної прямої.

Значення R^2 для калібрувальної прямої окремих ПАВ коливається в межах 99.992–99.999 %.

Така межа виявлення та межа кількісного визначення згідно розробленої методики є прийнятними для визначення бенз(а)пірену у ґрунті, який нормується згідно нормативної документації України і становить 20 мкг/кг [29].

Оскільки ґрунт – складною матрицею з нерівномірним розподілом ПАВ, в якому наявна певна кількість цих речовин (1–10 мкг/кг кожного ПАВ), точність оцінки вилучення ускладнюється і вимагає використання «хороших» зразків для вимірювань. При цьому «хороші» значення не повинні перевищувати 10% від реальної застосованої межі [25]. Хімічні реагенти перевіряли на чистоту і наявність в них ПАВ. Для оцінки правильності методики і розрахунку ступеня вилучення ($R, \%$) ПАВ, був внесений аналітичний стандарт суміші 16-ти ПАВ у 5-ти різних концентраціях (від 5 до 80 мкг/кг) окремо для кожного зразка, що відноситься до трьох різних типів українських ґрунтів.

Правильність. Порівняння ступенів вилучення окремих ПАВ для методу з використанням зразків різних типів ґрунтів наведено на рис.2. Значення варіюють в межах від 65,90% ($RSD = 5,29\%$) вилучення для бензо(ghi)периліну у дерново-підзолистому ґрунті до 109,05% ($RSD = 5,47\%$) для нафтадену у зразках сірого лісового ґрунту. В інших дослідників за використання методу пробопідготовки QuEChERS і його різних модифікацій із застосуванням різних розчинників, в середньому вилучення окремих ПАВ у ґрунтах коливались у межах від 70% до 110%, що близько до отриманих нами результатів. Але з використанням оптимізованого нами методу спостерігався вищий відсоток повернення серед летких сполук

(нафтаден, ацетанафтен) [20, 22].

Таким чином, отримані результати ступеня вилучення здебільшого відповідають діапазону допустимих значень (70–110%), але в окремих випадках для таких сполук, як бензо(ghi)периліну та індено(1,2,3-cd)пірен у зразках сірого лісового і дерново-підзолистого ґрунтів середні значення були дещо нижчими 70% (66–69%). Тому різний склад ґрунтів, зібраний з різних досліджуваних регіонів, може суттєво впливати на правильність визначення ПАВ і це варто враховувати при їх визначенні.

Вилучення для аценафтилену розраховане з використанням методу HPLC-DAD для чорнозему південного становило 88.16% при RSD 2.85%.

З метою оцінки внутрішньолабораторної відтворюваності запропонованої методики, нами було проаналізовано ацетонітрильні екстракти досліджуваного зразка ґрунту за допомогою методів HPLC-FLD та HPLC-DAD, з використанням різних хроматографів. Порівняння результатів вимірювання для двох методів виконували методом Бланда-Альтмана (рис.3). Ступінь узгодженості результатів для довірчого інтервалу 95% не виходить за допустимі межі зсуву ± 1.96 стандартних відхилень різниці між вимірами.

Прецизійність методики HPLC-FLD аналізу ПАВ у ґрунті оцінювали за збіжністю (повторюваністю) результатів вимірювання. Оцінку збіжності проводили, проаналізувавши зразок ґрунту з відомою концентрацією суміші ПАВ у 10-ти зразках (таблиця s2).

Експеримент проводився в умовах збіжності (в однакових умовах з використанням одного і того ж дослідника, одним і тим же дослідником). $RSDr$ – відсоток стандартне відхилення, розраховане на підставі результатів, отриманих в умовах збіжності (повторюваності). Значення $RSDr$ для HPLC-FLD коливались в межах 4.94–7.90%, для HPLC-DAD – 2.38–9.88% і є прийнятними (<20%) [26–28].

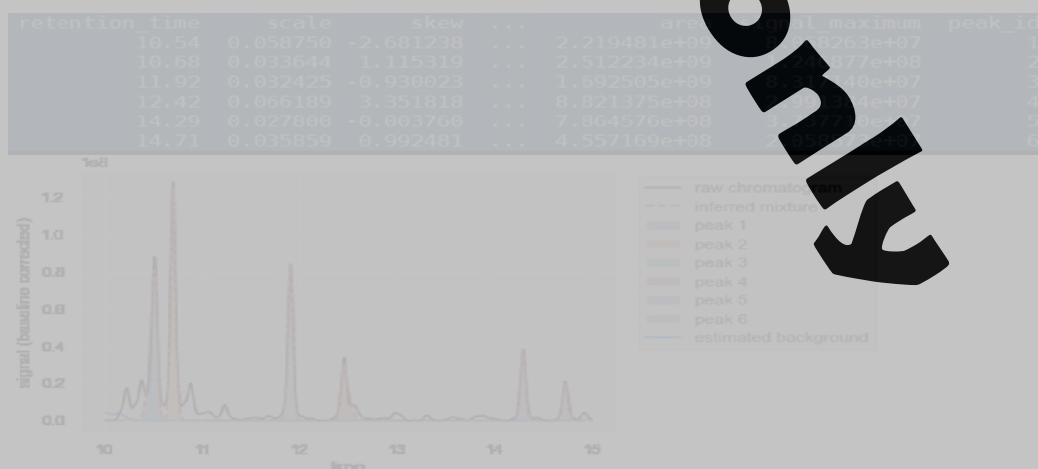


Рис.1. Обробка результатів фрагменту хроматограми (peak 1 – фенантрен, peak 2 – антрацен, peak 3 – флуорантен, peak 4 – пірен, peak 5 – бенз(а)антрацен, peak 6 – хризен) з використанням пакету мови програмування Python – hplc-py.



Рис. 2. Діаграми порівняння ступеня вилучення окремих ПАВ у зразках різних типів ґрунтів при виконанні аналізу методом HPLC-FLD.



Рис. 3. Порівняння методом Бланда-Альтмана результатів вимірювання концентрацій 15 ПАВ в зразку ґрунту, отриманих за допомогою методів HPLC-FLD та HPLC-DAD (95% довірчий інтервал, LOA – нижні і верхні статистичні межі узгодження).

Методика оцінена за основними валідаційними характеристиками, що підтверджують придатність методу для використання [30].

Висновки

Оптимізована й вдосконалена методика визначення 16-ти компонентів ПАВ у ґрунтах, яка включала метод екстракції QuEChERS без етапів випарювання розчинників та методи хроматографічного розділення і детектування з використанням HPLC-FLD і HPLC-DAD.

Оптимізована методика дає можливість

зменшити тривалість аналізу зразків ґрунту, здешевити та спростити метод екстракції ПАВ порівняно зі стандартними методиками, такими як ДСТУ ISO 13877:2005 та DIN EN 17503:2022, ефективно очистити зразки від сполук, що заважають кількісному визначенню. Проведена оцінка придатності методу за показниками його селективності, лінійності в інтервалах вимірювання, межі виявлення (LOD) і межі кількісного визначення (LOQ), прецизійності методики. Визначено ступені вилучення поліароматичних вуглеводнів на прикладі зразків різних типів ґрунту. Результати

оцінки придатності методу вказують на його прийнятність для визначення 16-ти ПАВ. Середнє значення ступенів вилучення для окремих ПАВ у різних зразках ґрунту було досить високим і коливалось в межах від 65.90 до 109.05%. Цей показник суттєво залежить від типу ґрунту, що варто враховувати при визначенні ПАВ.

З метою більш точного визначення площ піків, що перекриваються на хроматографах, використано пакет для мови програмування Python – hplc-py. Це дає можливість додатково проводити аналіз хроматограм та оптимізувати проведення деконволюції хроматографічних піків.

Література

1. Zhang, X.; Wang, X.; Zhao, Y.; Tang, Z.; Liang, W.; Wu, X.; Wang, J.; Wang, X.; Niu, L. Important but overlooked potential risks of substituted polycyclic aromatic hydrocarbon: looking below the tip of the iceberg. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* **2022**, 260 (1), 18–38. <https://doi.org/10.1007/s44169-022-00021-x>
2. Patel, A.B.; Shaikh, S.; Jain, K.; Desai, C.; Madamwar, D. Polycyclic aromatic hydrocarbons: sources, toxicity, and remediation approaches. *Front. Microbiol.* **2020**, 11, 562813. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.562813>
3. Wang, Z.; Ng, K.; Warner, R.D.; Stockmann, R.; Fang, Z. Reduction strategies for polycyclic aromatic hydrocarbons in processed foods. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2022**, 21, 1598–1626. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12905>
4. Buculei, I.; Dobrin, M.E.; Matei, D.; Onu, I.; Vicol, C.; Cioroiu, I.B.; Niculaua, M.; Iordan, D.A.; Cernomaz, A.; Trofor, A.C. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Induced by Smoking and Air Pollution: Correlation with Oxidative Stress in Chronic Obstructive Pulmonary Disease Patients. *Toxics*. **2022**, 10, 681. <https://doi.org/10.3390/toxics10110681>
5. Takam, P.; Schäffer, A.; Laovitthayangoon, S.; Charerntantanakul, W.; Sillapawattana, P. Toxic effect of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on co-culture model of human alveolar epithelial cells (A549) and macrophages (THP-1). *Environ. Sci. Eur.* **2024**, 36, 176. <https://doi.org/10.1186/s12302-024-01003-7>
6. Honda, M.; Suzuki, N.; Toxicities of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons for Aquatic Animals. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. **2020**, 17(4), 1363. <https://doi.org/10.3390/ijerph17041363>
7. Mallah, M.A.; Changxing, L.; Mallah, M.A.; Noreen, S.; Liu, Y.; Saeed, M.; Xi, H.; Ahmed, B.; Feng, F.; Mirjat, A.A.; Wang, W.; Jabar, A.; Naveed, M.; Li, J.-H.; Zhang, Q. Polycyclic Aromatic Hydrocarbon and Its Effects on Human Health: An Overview. *Chemosphere*. **2022**, 296, 133948. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.133948>
8. Jajoo, A.; Mekala, N.R.; Tomar, R.S.; Grieco, M.; Tikkanen, M.; Aro, E.-M. Inhibitory effects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on photosynthetic performance are not related to their aromaticity. *J. Photochem. Photobiol. B*. **2014**, 137, 151–155. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2014.03.011>
9. Sen, S.; Field, J.M. Chapter Three - Genotoxicity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Metabolites: Radical Cations and Ketones. *Adv. Mol. Toxicol.* **2013**, 7, 83–127. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-62645-5.00003-1>
10. Gan, S.; Lau, E.V.; Ng, H.K. Remediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *J. Hazard. Mater.* **2009**, 172 (2–3), 532–549. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.07.118>
11. Soursou, V.; Campo, J.; Picó, Y. Revisiting the analytical determination of PAHs in environmental samples: An update on recent advances. *Trends Environ. Anal. Chem.* **2023**, 37, e00195. <https://doi.org/10.1016/J.TEAC.2023.E00195>
12. Jing, C.; Zhenyu, D.; Qun, X.; Lina, L.; Rohrer, J. Thermo Fisher Scientific Application Note 70923: Sensitive and rapid determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in tap water. Sunnyvale, CA, **2017**. [Online] <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Application-Notes/AN-1085-LC-PAHs-Tap-Water-AN70923-EN.pdf>
13. Appendix A to Part 136. Methods for Organic Chemical Analysis of Municipal and Industrial Wastewater. Method 610 – Polynuclear Aromatic Hydrocarbons. US Environmental Protection Agency, Washington DC, 1984, 24 p. https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-10/documents/method_610_1984.pdf
14. Zhang, Q.; Liu, P.; Li, S.; Zhang, X.; Chen, H. Progress in the analytical research methods of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **2020**, 43(13-14), 425–444. <https://doi.org/10.1080/10826076.2020.1746668>
15. Laguerre, A.; Gall, E.T. Measurement of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) on indoor materials: method development. *ACS Omega* **2023**, 8 (23), 20624–20641. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c00944>
16. Tsymbaliuk, K.K.; Snurnikova, O.V.; Melnyk, K.V.; Fadeev, E.M.; Antonovich, V.P. Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Agricultural Products. *Methods Objects Chem. Anal.*, **2021**, 16 (3), 127–136. <https://doi.org/10.17721/moca.2021.127-136>
17. Erawaty Silalahi, E.M.; Anita, S.; Teruna H.Y. Comparison of extraction techniques for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil. *J. Phys.: Conf. Ser.* **2021**, 1819, 012061. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1819/1/012061>
18. Anastassiades, M.; Lehotay, S.; Štajnbaher, D.; Schenck, F. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. *J. AOAC Int.* **2003**, 86(2), 412–431. <https://doi.org/10.1093/jaoac/86.2.412>

19. Senin, S.A.; Midyk, S.V.; Korniyenko, V.I.; Konovalova, O.Yu.; Berezovskyi, O.V.; Ladohubets, E.V.; Harkusha, I.V. Determination of Mycotoxins in Wheat Grain by LC-MS/MS using Modified QuEChERS Sample Preparation. *Methods Objects Chem. Anal.* **2023**, *18*(1), 22–28. <https://doi.org/10.17721/moca.2023.22-28>
20. Nikolić, J.S.; Mitić, V.D.; Jovanović, V.P.S.; Dimitrijević, M.V.; Ilić, M.D.; Simonović, S.R.; Stojanović, G.S. Novel sorbent and solvent combination for QuEChERS soil sample preparation for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons by gas chromatography-mass spectrometry. *Anal. Lett.* **2018**, *51*, 1087–1107. <https://doi.org/10.1080/00032719.2017.1367007>
21. Petrarca, M.H.; Godoy, M.T. Gas chromatography-mass spectrometry determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in baby food using QuEChERS combined with low-density solvent dispersive liquid-liquid microextraction. *Food Chem.* **2018**, *257*, 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.135>
22. Li, Q.; Tang, J.; Chen, D.; Zhang, Y.; Lin, Q.; Ma, X.; Zhang, M.; Hu, H. [Hmim]PF₆ enhanced the extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from soil with the QuEChERS method. *Arab. J. Chem.* **2020**, *13*(2), 4102–4110. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2019.06.009>
23. Kuchma, P.O.; Kushnir, A.H.; Zemtsova, O.V.; Baranov, Yu.S. Kompleksnyy kontrol bahatozalyshkovykh kilkostey pestytsydiv ta PAV v gruntakh riznoho pryznachennya. *Zhurnal Khromatohrafichnoho tovarystva*. **2016**, *16* (1-4), 31–35.
24. Chure, G.; Cremer, J. hplc-py: A Python Utility For Rapid Quantification of Complex Chemical Chromatograms. *J. Open Source Softw.* **2024**, *9*(94), 6270. <https://doi.org/10.21105/joss.06270>
25. DIN EN 17503:2022. Soil, sludge, treated biowaste and waste – Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) by gas chromatography (GC) and high performance liquid chromatography (HPLC). German Institute for Standardisation (Deutsches Institut für Normung), **2022**, 57 p.
26. U.S. Environmental Protection Agency. Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods, Method 8100: Polynuclear Aromatic Hydrocarbons. September 1986, 10 p.
27. U.S. Environmental Protection Agency. Method 8270D: Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, part of Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods. Revision 5, 2014, US EPA ARCHIVE DOCUMENT, Method 8310: Polynuclear Aromatic Hydrocarbons. 1986.
28. U.S. Environmental Protection Agency. Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods, Method 8310: Polynuclear Aromatic Hydrocarbons. September 1986, 13 p.
29. Hihienichni rehlymenty dopustymoho vmistu khimichnykh rechovyh u grunti. Nakaz Ministerstva okhorony zdorov'ia Ukrainy № 1595 vid 14.07.2020. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0722-20#Text> (in Ukrainian)
30. Barwick, V. (Ed). Eurachem/CITAC Guide: Guide to Quality in Analytical Chemistry: An Aid to Accreditation (3rd ed. 2016). Eurachem. 2016, 59 p. Available from www.eurachem.org